

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 9 月 3 0 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 3 4 0 4 9 6
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 3 - 3 4 0 4 9 6]

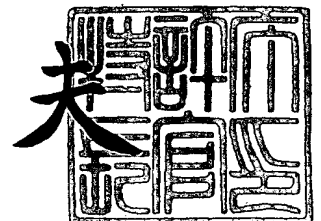
出 願 人 株式会社北里サプライ
Applicant(s):

BEST AVAILABLE COPY

2 0 0 4 年 4 月 2 7 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



CERTIFIED COPY OF
PRIORITY DOCUMENT

出証番号 出証特 2 0 0 4 - 3 0 3 6 5 3 1

【書類名】 特許願
【整理番号】 KSP0022
【提出日】 平成15年 9月30日
【あて先】 特許庁長官 殿
【国際特許分類】 C12N 5/06
【発明者】
 【住所又は居所】 東京都新宿区西新宿7丁目20番3号 第2太平ビル4F 加藤レディースクリニック内
 【氏名】 桑山 正成
【発明者】
 【住所又は居所】 静岡県富士宮市野中1144番地の3 株式会社北里サプライ内
 【氏名】 井上 太
【特許出願人】
 【識別番号】 593037553
 【氏名又は名称】 株式会社北里サプライ
【代理人】
 【識別番号】 100089060
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 向山 正一
【先の出願に基づく優先権主張】
 【出願番号】 特願2003-110496
 【出願日】 平成15年 4月15日
【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 008132
 【納付金額】 21,000円
【提出物件の目録】
 【物件名】 特許請求の範囲 1
 【物件名】 明細書 1
 【物件名】 図面 1
 【物件名】 要約書 1
 【包括委任状番号】 0213053

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

耐液体窒素材料で形成されるとともにヒートシール可能な卵凍結保存用チューブと、耐液体窒素材料により形成され、該卵凍結保存用チューブを保護するための金属製筒状保護部材とを備える卵凍結保存用具であって、前記卵凍結保存用チューブは、本体部と、該本体部より細径であるとともに、内径が0.1mm～0.5mmの卵保存用細径部とを備えるとともに、該卵凍結保存用チューブの前記細径部内に卵を採取した後において、該細径部を該細径部の先端側にてヒートシール可能な先端側ヒートシール可能部と前記本体部にてヒートシール可能な後端側ヒートシール可能部とを備え、前記筒状保護部材は、前記卵凍結保存用チューブの前記細径部の先端部を収納する筒状部と、前記卵凍結保存用チューブの前記細径部の前記筒状部に収納されない部分および前記本体部の先端部を収納する半筒状部とを備えることを特徴とする卵凍結保存用具。

【請求項 2】

前記卵凍結保存用具は、前記卵凍結保存用チューブの前記本体部の後端部を接続可能な接続部を備える卵採取用吸引具を備えるものである請求項 1 に記載の卵凍結保存用具。

【請求項 3】

前記筒状保護部材の前記半筒状部は、前記卵凍結保存用チューブの前記本体部を保持するための保持部を備えている請求項 1 または 2 に記載の卵凍結保存用具。

【請求項 4】

請求項 1 ないし 3 のいずれかに記載の卵凍結保存用具を用いる卵凍結保存方法であって、細胞内液の平衡液への置換および細胞外液のガラス化液への置換を行った卵を準備する工程と、前記卵凍結保存用チューブの前記細径部内に卵をガラス化液とともに採取する採取工程と、前記細径部の先端部において該卵凍結保存用チューブの一端側をヒートシールし、前記本体部において該卵凍結保存用チューブの他端側をヒートシールする卵凍結保存用チューブ封止工程と、封止された卵凍結保存用チューブに前記金属製保護部材を取り付ける保護部材取付工程と、該保護部材が取り付けられた卵凍結保存用チューブを液体窒素タンク内に投入する投入工程とを行うことを特徴とする卵凍結保存方法。

【請求項 5】

請求項 2 または 3 に記載の卵凍結保存用具を用いる卵凍結保存方法であって、細胞内液の平衡液への置換および細胞外液のガラス化液への置換を行った卵を準備する工程と、前記卵凍結保存用チューブの本体部に前記吸引具を装着したものを準備する工程と、該吸引具を操作して前記卵凍結保存用チューブの前記細径部内に卵をガラス化液とともに採取する採取工程と、前記吸引具を装着した状態において、前記細径部の先端部において該卵凍結保存用チューブの一端側をヒートシールし、前記本体部において該卵凍結保存用チューブの他端側をヒートシールする卵凍結保存用チューブ封止工程と、前記卵凍結保存用チューブより吸引具を取り外す吸引具除去工程と、封止された卵凍結保存用チューブに前記金属製保護部材を取り付ける保護部材取付工程と、該保護部材が取り付けられた卵凍結保存用チューブを液体窒素タンク内に投入する投入工程とを行うことを特徴とする卵凍結保存方法。

【請求項 6】

耐液体窒素材料で形成されるとともにヒートシール可能な卵凍結保存用チューブと、耐液体窒素材料により形成され、該卵凍結保存用チューブに取り付けられた該卵凍結保存用チューブを保護するための金属製筒状保護部材とを備える卵凍結保存用具であって、前記卵凍結保存用チューブは、本体部と、該本体部より細径であるとともに、内径が0.1mm～0.5mmの卵保存用細径部とを備えるとともに、該卵凍結保存用チューブの前記細径部内に卵を採取した後において、該細径部を該細径部の先端側にてヒートシール可能な先端側ヒートシール可能部と前記本体部にてヒートシール可能な後端側ヒートシール可能部とを備え、前記筒状保護部材は、前記卵凍結保存用チューブの前記細径部の先端部を収納する筒状部と、該筒状部の基端側に設けられた前記卵凍結保存用チューブの前記細径部の前記筒状部に収納されない部分および前記本体部の先端部を収納する半筒状部と、該半筒

状部の後端側に設けられた前記卵凍結保存用チューブの前記本体部を保持するための保持部を備え、該筒状保護部材は、前記細径部が該筒状保護部材の先端から露出するように後端側にスライド可能であり、さらに、前記卵凍結保存用チューブの前記本体部もしくは該本体部と前記細径部との境界部付近には前記筒状保護部材が前記卵凍結保存用チューブに対して先端側に抜けることを防止する抜け防止部が設けられていることを特徴とする卵凍結保存用具。

【請求項 7】

前記抜け防止部は、前記卵凍結保存用チューブの前記本体部もしくは前記本体部と前記細径部との境界部付近に設けられた拡径部である請求項 6 に記載の卵凍結保存用具。

【請求項 8】

前記卵凍結保存用具は、前記卵凍結保存用チューブの前記本体部の後端部を接続可能な接続部を備える卵採取用吸引具を備えるものである請求項 6 または 7 に記載の卵凍結保存用具。

【請求項 9】

前記卵凍結保存用具は、前記卵凍結保存用チューブの前記本体部の後端部と接続可能な接続部と、該接続部に直接的かつ間接的に取り付けられたチューブと、該チューブに設けられたマウスピースを備える卵採取用吸引具を有している請求項 6 または 7 に記載の卵凍結保存用具。

【請求項 10】

請求項 6 ないし 9 のいずれかに記載の卵凍結保存用具を用いる卵凍結保存方法であって、細胞内液の平衡液への置換および細胞外液のガラス化液への置換を行った卵を準備する工程と、前記筒状保護部材を前記卵凍結保存用チューブに対して後端側にスライドさせ、該卵凍結保存用チューブの前記細径部を露出させる工程と、前記卵凍結保存用チューブの前記細径部内に卵をガラス化液とともに採取する採取工程と、卵を採取した前記卵凍結保存用チューブの前記細径部の先端部において前記卵凍結保存用チューブの一端側をヒートシールし、前記本体部において前記卵凍結保存用チューブの他端側をヒートシールする卵凍結保存用チューブ封止工程と、前記卵凍結保存用チューブの前記一端側を封止後もしくは前記一端側及び前記本体部の両方を封止後、前記筒状保護部材を先端側にスライドさせ前記筒状保護部材内に前記卵凍結保存用チューブの前記細径部を収納する工程と、前記卵凍結保存用具を液体窒素タンク内に投入する投入工程とを行うことを特徴とする卵凍結保存方法。

【請求項 11】

請求項 8 または 9 に記載の卵凍結保存用具を用いる卵凍結保存方法であって、細胞内液の平衡液への置換および細胞外液のガラス化液への置換を行った卵を準備する工程と、前記卵凍結保存用チューブの前記本体部に前記吸引具を装着したものを準備する工程と、前記筒状保護部材を前記卵凍結保存用チューブに対して後端側にスライドさせ、該チューブの細径部を露出させる工程と、前記吸引具を操作して前記卵凍結保存用チューブの前記細径部内に卵をガラス化液とともに採取する採取工程と、前記吸引具を装着した状態において、前記細径部の先端部において前記卵凍結保存用チューブの一端側をヒートシールし、前記本体部において前記卵凍結保存用チューブの他端側をヒートシールする卵凍結保存用チューブ封止工程と、前記一端側を封止後もしくは前記一端側及び前記本体部の両方を封止後、前記筒状保護部材を先端側にスライドさせ前記筒状保護部材内に前記チューブの前記細径部を収納する工程と、前記卵凍結保存用チューブより前記吸引具を取り外す吸引具除去工程と、該保護部材が取り付けられた卵凍結保存用チューブを液体窒素タンク内に投入する投入工程とを行うことを特徴とする卵凍結保存方法。

【書類名】明細書**【発明の名称】卵凍結保存用具****【技術分野】****【0001】**

本発明は、哺乳動物の卵子、胚などの卵を凍結保存する際に使用する卵凍結保存用具および卵凍結保存方法に関する。

【背景技術】**【0002】**

哺乳動物胚の凍結保存は、特定の系統や品種の遺伝資源の保存を可能とする。また、絶滅の危機に瀕している動物種の維持にも有効である。さらに、ヒトの不妊治療においても有用である。

哺乳動物胚の凍結保存方法としては、特開2000-189155公報（特許文献1）において、哺乳動物胚または卵子を滅菌処理した凍結ストロー、凍結バイアルまたは凍結チューブ等の凍結保存用容器の内面に、これらの胚または卵子を被包するに十分な最少量のガラス化液で貼り付け、この凍結保存用容器を密封し、そしてこの容器を液体窒素に接触させて急速に冷却することが提案されている。そして、融解方法では、前記の方法で保存した凍結保存用容器を前記液体窒素から取り出し、容器の一端部を開口し、この容器内に33～39℃の希釈液を直接注入し、胚または卵子の凍結を融解希釈するものである。この方法によれば、哺乳動物胚または卵子をウイルスや細菌による感染のおそれがなく高い生存率で保存および融解希釈することのできるという優れた効果を備えている。

また、特開2002-315573号公報（特許文献2）に示す卵凍結保存用具を本件出願人は提案している。この卵凍結保存用具は、耐寒性材料により形成された本体部と、本体部の一端に取り付けられ、可撓性かつ透明性かつ液体窒素耐性材料により形成された卵付着保持用ストリップと、該卵付着保持用ストリップを被包可能に本体部に着脱自在に取り付けられる一端が封鎖され、かつ耐寒性材料により形成された筒状部材とからなるものである。

特開2001-252293号公報（特許文献3）には、卵子または胚をガラス化するためのガラス化用具であって、筒状の極細管部と、該極細管部に続く、吸引及び吐出用器具に装填するための連結部とを含み、前記極細管部の長手方向に対する垂直断面の内空部分において対向する2点間の最短距離が、卵子または胚の最小外径の2倍よりも短く、且つ卵子または胚の最大外径よりも長いため、該極細管部の中に入った卵子または胚が、極細管部の長手方向に対する垂直面上に2個以上並存しえないことを特徴とするガラス化用具が開示されている。

【0003】**【特許文献1】** 特開2000-189155公報**【特許文献2】** 特開2002-315573号公報**【特許文献3】** 特開2001-252293号公報**【発明の開示】****【発明が解決しようとする課題】****【0004】**

上記の特許文献1のものでも十分な効果を有するが、より操作の容易な凍結保存用具が望まれている。

上記の特許文献2のものでは、卵の採取が極めて容易という利点を備えるが、卵が直接液体窒素に接触するため、卵に対する影響が危惧される。

上記の特許文献3のガラス化用具では、極細管部において卵を採取するとともに冷却するため卵を急速に冷却できるという効果を備えている。しかし、卵の凍結後にガラス化用具より卵採取のためのピペットを離脱する際に、ガラス化用具内に雑菌が侵入するおそれがある。また、ガラス化用具を液体窒素に浸漬させる際に極細管部を損傷させるおそれもある。さらに、液体窒素中でガラス化用具の極細管部を保存用外筒内に挿入させるものであるため、作業が困難である。

【0005】

そこで、本発明の目的は、卵の凍結（ガラス化）を含む保存用液体窒素タンク内の保存のための作業中に雑菌が侵入することを防止し、かつ、卵を直接液体窒素に接触させることなく、急速に冷却可能であり、かつ、保存用液体窒素タンク内にて安定した状態と保つことができる卵凍結保存用具および卵凍結保存方法を提供するものである。

【課題を解決するための手段】

【0006】

上記目的を達成するものは、以下のものである。

(1) 耐液体窒素材料で形成されるとともにヒートシール可能な卵凍結保存用チューブと、耐液体窒素材料により形成され、該卵凍結保存用チューブを保護するための金属製筒状保護部材とを備える卵凍結保存用具であって、前記卵凍結保存用チューブは、本体部と、該本体部より細径であるとともに、内径が0.1mm～0.5mmの卵保存用細径部とを備えるとともに、該卵凍結保存用チューブの前記細径部内に卵を採取した後において、該細径部を該細径部の先端側にてヒートシール可能な先端側ヒートシール可能部と前記本体部にてヒートシール可能な後端側ヒートシール可能部とを備え、前記筒状保護部材は、前記卵凍結保存用チューブの前記細径部の先端部を収納する筒状部と、前記卵凍結保存用チューブの前記細径部の前記筒状部に収納されない部分および前記本体部の先端部を収納する半筒状部とを備える卵凍結保存用具。

(2) 前記卵凍結保存用具は、前記卵凍結保存用チューブの前記本体部の後端部を接続可能な接続部を備える卵採取用吸引具を備えるものである上記(1)に記載の卵凍結保存用具。

(3) 前記筒状保護部材の前記半筒状部は、前記卵凍結保存用チューブの前記本体部を保持するための保持部を備えている上記(1)または(2)に記載の卵凍結保存用具。

【0007】

(4) 上記(1)ないし(3)のいずれかに記載の卵凍結保存用具を用いる卵凍結保存方法であって、細胞内液の平衡液への置換および細胞外液のガラス化液への置換を行った卵を準備する工程と、前記卵凍結保存用チューブの前記細径部内に卵をガラス化液とともに採取する採取工程と、前記細径部の先端部において該卵凍結保存用チューブの一端側をヒートシールし、前記本体部において該卵凍結保存用チューブの他端側をヒートシールする卵凍結保存用チューブ封止工程と、封止された卵凍結保存用チューブに前記金属製保護部材を取り付ける保護部材取付工程と、該保護部材が取り付けられた卵凍結保存用チューブを液体窒素タンク内に投入する投入工程とを行う卵凍結保存方法。

(5) 上記(2)または(3)に記載の卵凍結保存用具を用いる卵凍結保存方法であって、細胞内液の平衡液への置換および細胞外液のガラス化液への置換を行った卵を準備する工程と、前記卵凍結保存用チューブの本体部に前記吸引具を装着したものを準備する工程と、該吸引具を操作して前記卵凍結保存用チューブの前記細径部内に卵をガラス化液とともに採取する採取工程と、前記吸引具を装着した状態において、前記細径部の先端部において該卵凍結保存用チューブの一端側をヒートシールし、前記本体部において該卵凍結保存用チューブの他端側をヒートシールする卵凍結保存用チューブ封止工程と、前記卵凍結保存用チューブより吸引具を取り外す吸引具除去工程と、封止された卵凍結保存用チューブに前記金属製保護部材を取り付ける保護部材取付工程と、該保護部材が取り付けられた卵凍結保存用チューブを液体窒素タンク内に投入する投入工程とを行う卵凍結保存方法。

【0008】

上記目的を達成するものは、以下のものである。

(6) 耐液体窒素材料で形成されるとともにヒートシール可能な卵凍結保存用チューブと、耐液体窒素材料により形成され、該卵凍結保存用チューブに取り付けられた該卵凍結保存用チューブを保護するための金属製筒状保護部材とを備える卵凍結保存用具であって、前記卵凍結保存用チューブは、本体部と、該本体部より細径であるとともに、内径が0.1mm～0.5mmの卵保存用細径部とを備えるとともに、該卵凍結保存用チューブの前記細径部内に卵を採取した後において、該細径部を該細径部の先端側にてヒートシール可

能な先端側ヒートシール可能部と前記本体部にてヒートシール可能な後端側ヒートシール可能部とを備え、前記筒状保護部材は、前記卵凍結保存用チューブの前記細径部の先端部を収納する筒状部と、該筒状部の基端側に設けられた前記卵凍結保存用チューブの前記細径部の前記筒状部に収納されない部分および前記本体部の先端部を収納する半筒状部と、該半筒状部の後端側に設けられた前記卵凍結保存用チューブの前記本体部を保持するための保持部を備え、該筒状保護部材は、前記細径部が該筒状保護部材の先端から露出するように後端側にスライド可能であり、さらに、前記卵凍結保存用チューブの前記本体部もしくは該本体部と前記細径部との境界部付近には前記筒状保護部材が前記卵凍結保存用チューブに対して先端側に抜けることを防止する抜け防止部が設けられている卵凍結保存用具。

(7) 前記抜け防止部は、前記卵凍結保存用チューブの前記本体部もしくは前記本体部と前記細径部との境界部付近に設けられた拡径部である上記(6)に記載の卵凍結保存用具。

(8) 前記卵凍結保存用具は、前記卵凍結保存用チューブの前記本体部の後端部を接続可能な接続部を備える卵採取用吸引具を備えるものである上記(6)または(7)に記載の卵凍結保存用具。

(9) 前記卵凍結保存用具は、前記卵凍結保存用チューブの前記本体部の後端部と接続可能な接続部と、該接続部に直接的かつ間接的に取り付けられたチューブと、該チューブに設けられたマウスピースを備える卵採取用吸引具を有している上記(6)または(7)に記載の卵凍結保存用具。

【0009】

(10) 上記(6)ないし(9)のいずれかに記載の卵凍結保存用具を用いる卵凍結保存方法であって、細胞内液の平衡液への置換および細胞外液のガラス化液への置換を行った卵を準備する工程と、前記筒状保護部材を前記卵凍結保存用チューブに対して後端側にスライドさせ、該卵凍結保存用チューブの前記細径部を露出させる工程と、前記卵凍結保存用チューブの前記細径部内に卵をガラス化液とともに採取する採取工程と、卵を採取した前記卵凍結保存用チューブの前記細径部の先端部において前記卵凍結保存用チューブの一端側をヒートシールし、前記本体部において前記卵凍結保存用チューブの他端側をヒートシールする卵凍結保存用チューブ封止工程と、前記卵凍結保存用チューブの前記一端側を封止後もしくは前記一端側及び前記本体部の両方を封止後、前記筒状保護部材を先端側にスライドさせ前記筒状保護部材内に前記卵凍結保存用チューブの前記細径部を収納する工程と、前記卵凍結保存用具を液体窒素タンク内に投入する投入工程とを行うことを特徴とする卵凍結保存方法。

(11) 上記(8)または(9)に記載の卵凍結保存用具を用いる卵凍結保存方法であって、細胞内液の平衡液への置換および細胞外液のガラス化液への置換を行った卵を準備する工程と、前記卵凍結保存用チューブの前記本体部に前記吸引具を装着したものを準備する工程と、前記筒状保護部材を前記卵凍結保存用チューブに対して後端側にスライドさせ、該チューブの細径部を露出させる工程と、前記吸引具を操作して前記卵凍結保存用チューブの前記細径部内に卵をガラス化液とともに採取する採取工程と、前記吸引具を装着した状態において、前記細径部の先端部において前記卵凍結保存用チューブの一端側をヒートシールし、前記本体部において前記卵凍結保存用チューブの他端側をヒートシールする卵凍結保存用チューブ封止工程と、前記一端側を封止後もしくは前記一端側及び前記本体部の両方を封止後、前記筒状保護部材を先端側にスライドさせ前記筒状保護部材内に前記チューブの前記細径部を収納する工程と、前記卵凍結保存用チューブより前記吸引具を取り外す吸引具除去工程と、該保護部材が取り付けられた卵凍結保存用チューブを液体窒素タンク内に投入する投入工程とを行うことを特徴とする卵凍結保存方法。

【発明の効果】

【0010】

本発明の卵凍結保存用具は、耐液体窒素材料で形成されるとともにヒートシール可能な卵凍結保存用チューブと、耐液体窒素材料により形成され、該卵凍結保存用チューブを保

護するための金属製筒状保護部材とを備える卵凍結保存用具であって、前記卵凍結保存用チューブは、本体部と、該本体部より細径であるとともに、内径が0.1mm～0.5mmの卵保存用細径部とを備えるとともに、該卵凍結保存用チューブの前記細径部内に卵を採取した後において、該細径部を該細径部の先端側にてヒートシール可能な先端側ヒートシール可能部と前記本体部にてヒートシール可能な後端側ヒートシール可能部とを備え、前記筒状保護部材は、前記卵凍結保存用チューブの前記細径部の先端部を収納する筒状部と、前記卵凍結保存用チューブの前記細径部の前記筒状部に収納されない部分および前記本体部の先端部を収納する半筒状部とを備えている。

このため、保存チューブに卵を採取後、チューブの両端をヒートシールにより封止できるため、チューブ内への卵採取操作およびガラス化操作時にチューブ内に雑菌が侵入することを防止でき、かつ、ガラス化のためにチューブを液体窒素に接触させても、卵は直接液体窒素に接触することはない。また、卵は、チューブの細径部に採取可能なため、液体窒素により急速に冷却可能であるため、確実にガラス化状態とすることができる。さらに、保護部材を備えるため、卵を採取したチューブの液体窒素タンクへの投入時に、チューブが損傷を受けることをチューブの冷却を阻害することなく防止する。

【0011】

また、本発明は、耐液体窒素材料で形成されるとともにヒートシール可能な卵凍結保存用チューブと、耐液体窒素材料により形成され、該卵凍結保存用チューブに取り付けられた該卵凍結保存用チューブを保護するための金属製筒状保護部材とを備える卵凍結保存用具であって、前記卵凍結保存用チューブは、本体部と、該本体部より細径であるとともに、内径が0.1mm～0.5mmの卵保存用細径部とを備えるとともに、該卵凍結保存用チューブの前記細径部内に卵を採取した後において、該細径部を該細径部の先端側にてヒートシール可能な先端側ヒートシール可能部と前記本体部にてヒートシール可能な後端側ヒートシール可能部とを備え、前記筒状保護部材は、前記卵凍結保存用チューブの前記細径部の先端部を収納する筒状部と、該筒状部の基端側に設けられた前記卵凍結保存用チューブの前記細径部の前記筒状部に収納されない部分および前記本体部の先端部を収納する半筒状部と、該半筒状部の後端側に設けられた前記卵凍結保存用チューブの前記本体部を保持するための保持部を備え、該筒状保護部材は、前記細径部が該筒状保護部材の先端から露出するように後端側にスライド可能であり、さらに、前記卵凍結保存用チューブの前記本体部もしくは該本体部と前記細径部との境界部付近には前記筒状保護部材が前記卵凍結保存用チューブに対して先端側に抜けることを防止する抜け防止部が設けられている。

このため、保存チューブに卵を採取後、チューブの両端をヒートシールにより封止できるため、チューブ内への卵採取操作およびガラス化操作時にチューブ内に雑菌が侵入することを防止でき、かつ、ガラス化のためにチューブを液体窒素に接触させても、卵は直接液体窒素に接触することはない。また、卵は、チューブの細径部に採取可能なため、液体窒素により急速に冷却可能であるため、確実にガラス化状態とすることができる。さらに、保護部材を備えるため、卵を採取したチューブの液体窒素タンクへの投入時に、チューブが損傷を受けることをチューブの冷却を阻害することなく防止する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0012】

本発明の卵凍結保存用具を図面に示した実施例を用いて説明する。

図1は、本発明の卵凍結保存用具の一実施例の斜視図である。図2は、図1に示した卵凍結保存用具に使用される卵凍結保存用チューブの拡大側面図である。図3は、図1に示した卵凍結保存用具に使用される卵凍結保存用チューブ用保護部材の拡大側面図である。図4は、図1に示した卵凍結保存用具に使用される卵凍結保存用チューブ用吸引具の拡大断面図である。図5は、本発明の卵凍結保存用具に使用される卵凍結保存用チューブの他の例の拡大側面図である。

図6、図7および図8は、本発明の卵凍結保存用具の作用を説明するための説明図である。

【0013】

本発明の卵凍結保存用具 1 は、耐液体窒素材料で形成されるとともにヒートシール可能な卵凍結保存用チューブ 2 と、耐液体窒素材料により形成され、卵凍結保存用チューブ 2 を保護するための金属製筒状保護部材 3 とを備える。卵凍結保存用チューブ 2 は、本体部 21 と、本体部 21 より細径であるとともに、内径が 0.1 mm ~ 0.5 mm の卵保存用細径部 22 とを備えるとともに、卵凍結保存用チューブ 2 の細径部 22 内に卵を採取した後において、細径部 22 を細径部の先端側にてヒートシール可能な先端側ヒートシール可能部と本体部 21 にてヒートシール可能な後端側ヒートシール可能部とを備えている。筒状保護部材 3 は、卵凍結保存用チューブ 2 の細径部 22 の先端部を収納する筒状部 31 と、卵凍結保存用チューブ 2 の細径部 22 の筒状部 31 に収納されない部分および本体部 21 の先端部 21a を収納する半筒状部 32 とを備えている。

また、卵凍結保存用具 1 は、卵凍結保存用チューブ 2 の本体部 22 の後端部を接続可能な先端部を備える卵採取用吸引具 4 を備えることが好ましい。

この実施例の卵凍結保存用具 1 は、卵凍結保存用チューブ 2 と、筒状保護部材 3 と、卵採取用吸引具 4 とを備える。

【0014】

卵凍結保存用チューブ 2 は、図 1 および図 2 に示すように、本体部 21 と、本体部 21 より細径である卵保存用細径部 22 とを備え、さらに、本体部 21 と細径部 22 間にテーパー部 23 を備えている。

卵凍結保存用チューブ 2 は、全長 50 ~ 100 mm 程度が好ましく、特に、60 ~ 90 mm が好ましい。特に、70 ~ 80 mm が好ましい。本体部 21 の長さは、20 ~ 70 mm が好ましく、特に、30 ~ 60 mm が好ましい。本体部 21 の内径は、1.0 ~ 3.0 mm が好ましく、特に、1.5 ~ 2.5 mm が好ましい。本体部 21 の肉厚は、50 ~ 400 μ m が好ましく、特に、100 ~ 300 μ m が好ましい。細径部 22 の長さは、20 ~ 50 mm が好ましく、特に、30 ~ 40 mm が好ましい。

細径部 22 の内径は、0.1 ~ 0.5 mm であり、特に、0.1 ~ 0.3 mm が好ましい。また、細径部 22 の肉厚は、10 ~ 300 μ m であることが好ましく、特に、25 ~ 200 μ m が好ましい。また、細径部 22 の肉厚は、本体部 21 の肉厚より薄いことが好ましい。そして、テーパー部 23 は、外径および肉厚の移行領域を形成している。具体的には、テーパー部 23 において、外径および内径は細径部 22 側に向かって縮径するとともに肉厚も細径部 22 側に向かって薄くなっている。このような移行領域であるテーパー部を設けることにより、本体部と細径部との境界部分でのチューブのキンクを抑制することができる。

本体部 21 は、その全体が実質的に同じ外径となっている。また、細径部 22 もその全体が実質的に同じ外径となっている。なお、本体部および細径部は、先端側に向かって緩やかに縮径するテーパー状となっていてよい。

【0015】

また、チューブ 2 は、耐液体窒素材料でありかつヒートシール可能な材料により形成されている。チューブ 2 の形成材料としては、ポリエステル（例えば、ポリエチレンテレフタレート、ポリブチレンテレフタレート）、ポリオレフィン（例えば、ポリエチレン、超高分子量ポリエチレン、ポリプロピレン、エチレン-プロピレン共重合体、エチレン-酢酸ビニル共重合体）、スチレン系樹脂（例えば、ポリスチレン、メタクリレート-スチレン共重合体、メタクリレート-ブチレン-スチレン共重合体）、ポリアミド（例えば、6 ナイロン、66 ナイロン）等の熱可塑性樹脂が使用される。

また、チューブ 2 は、多層樹脂チューブであってもよい。チューブにおける内層としては、ヒートシール性の高い樹脂が好ましい。例えば、低分子量ポリエチレン、特に、無延伸かつ低分子量ポリエチレンが好ましい。なお、上述した内層は、このヒートシール可能部にのみ設けてもよい。また、チューブにおける外層としては、上述した熱可塑性樹脂、さらには、フッ素系樹脂、ポリイミドなどの難ヒートシール性樹脂を用いてもよい。フッ素系樹脂としては、ポリテトラフルオロエチレン、エチレン-テトラフルオロエチレン共重合体、テトラフルオロエチレン-ヘキサフルオロプロピレン共重合体、塩化三フッ化エチレン樹

脂などが使用できる。ポリイミドとしては、芳香族ポリイミドが好ましい。また、外層は、一軸もしくは二軸延伸物であってもよい。

【0016】

さらに、チューブ2は、細径部22内に卵を採取した後において、細径部22を細径部の先端側にてヒートシール可能な先端側ヒートシール可能部と本体部21を本体部21の後端側にてヒートシール可能な後端側ヒートシール可能部とを備えている。この実施例では、チューブ2は、いずれの部位においてもヒートシール可能なものとなっている。しかし、このようなものに限定されるものではなく、細径部21の先端部および本体部21の後端部に、ヒートシール用の薄肉部分を形成し、ヒートシール可能部（易ヒートシール可能部）を作製してもよい。さらに、ヒートシール性材料により形成された内層を、細径部22の先端側および本体部21の後端部に設け、ヒートシール可能部を形成してもよい。

【0017】

また、卵凍結保存用チューブは、図5に示すチューブ20のように、チューブの先端に拡張部24を備えるものであってもよい。拡張部24は、先端に向かってテーパ状に拡張するものであることが好ましい。拡張部24の長さとしては、0.5～3mm程度が好適である。また、拡張部24の最大内径部分における内径は、細径部22の内径の1.5倍から10倍程度が好ましく、特に、2倍から7倍程度が好適である。このような拡張部を設けることにより、卵採取作業が容易となるとともに、チューブの先端端面が卵採取時に卵に接触する機会を減少させ、損傷を与える可能性をより少ないものとする。

【0018】

金属製筒状保護部材3は、先端側に位置する筒状部31と後端側に位置する半筒状部32とを備える。筒状部31は、卵凍結保存用チューブ2の細径部22の先端側を収納する部分であり、半筒状部32は、細径部22の筒状部31に収納されない部分および本体部21の先端部21aを収納する部分である。なお、半筒状部32は、本体部21のほぼ全体を収納できるものであってもよい。

この保護部材3は、ガラス化液とともに卵を採取したチューブ2を、卵の冷却を阻害することなく保護するものである。このため、チューブ2の採取した卵が位置する細径部21の中間部もしくは後端部は、半筒状部32に位置するようにチューブ2に装着される。つまり、保護部材3は、チューブ2に、チューブの卵を収納する細径部部分が露出し、液体窒素に容易に接触可能な状態に装着される。また、保護部材3は、筒状部31の先端より、チューブ2の先端が突出しない状態に装着される。このため、液体窒素充填容器内に保護部材を装着したチューブを細径部側より投入しても、チューブの細径部の先端は容器の底面に当接しない。このため、チューブ2が細径部もしくはテーパ部においてキンクし、チューブが破損することを防止できる。

【0019】

保護部材3は、全長が30～70mmが好ましく、特に、40～60mmが好適である。より好ましくは、45～55mmである。筒状部31の長さは、10～40mmが好ましく、特に、10～30mmが好ましい。より好ましくは、15～25mmである。筒状部31の内径、2.0～4.0mmが好ましく、特に、2.5～3.5mmが好ましい。なお、筒状部は、図示する実施例のような円筒状であることが好ましいが、これに限定されるものではなく、楕円筒状、多角筒状であってもよい。円筒部31の肉厚は、0.3～1.0mmが好ましい。

半筒状部32の長さは、10～40mmが好ましく、特に、25～35mmが好ましい。また、半筒状部としては、内周の大きさが筒状部の内周の1/3～2/3程度であることが好ましい。特に、半筒状部32としては、半筒状部32の側面側よりチューブ2の本体部を収納可能であることが好ましい。このようにすることにより、チューブ2を半筒状部32の端面開口ではなく、軸方向に長い側面開口より装着することができる。なお、なお、半筒状部は、図示する実施例のような半円筒状であることが好ましいが、これに限定されるものではなく、半楕円筒状、半多角筒状であってもよい。

【0020】

保護部材 3 は、金属により形成されている。金属としては、ステンレス鋼、アルミもしくはアルミ合金、チタンもしくはチタン合金などが使用できる。また、高比重樹脂であってもよい。高比重樹脂としては、樹脂材料に金属粉末を添加したものが考えられる。このような金属製保護部材は熱伝導率が高いことより、これに収納される卵凍結保存用チューブの冷却を迅速に行うことができる。さらに、解凍時にも卵凍結保存用チューブの加温を迅速に行うことができる。また、液体窒素タンク内に投入した際に、タンク内にて浮かびあがらないため、タンクの底部に安定して保存できる。

【0021】

また、筒状保護部材 3 の半筒状部 3 2 は、卵凍結保存用チューブ 2 の本体部 3 1 を保持するための保持部 3 3 を備えていることが好ましい。図 3 に示すように、この実施例の保護部材 3 では、半筒状部 3 2 の後端側に設けられた保持部 3 3 を備えている。保持部 3 3 は、弾性材料により形成された半筒状部材であり、チューブ 2 の本体部 3 1 の外面に密着しチューブ 2 を保持する。このような保持部 3 3 を備えることにより、チューブ 2 に装着された保護部材 3 の移動を防止する。

保持部としては、シリコーンゴム、ラテックスゴムなどのゴム、ポリオレフィンエラストマー、ポリウレタンもしくはポリウレタンエラストマー、ポリアミドエラストマー、スチレン系エラストマー（例えば、SEBS）などのエラストマーが使用できる。

【0022】

そして、この実施例の卵凍結保存用具 1 は、卵凍結保存用チューブ 2 の本体部 2 1 の後端部を接続可能な接続部 4 3 を備える卵採取用吸引具 4 を備えている。

卵採取用吸引具 4 は、外筒 4 1 と、外筒 4 1 内を液密に摺動するプランジャ 4 2 と、外筒 4 1 の先端に設けられた接続部 4 3 を備えている。この実施例の吸引具 4 では、接続部 4 3 は、弾性チューブ体であり、先端側に卵凍結保存用チューブ 2 の本体部 2 1 の後端部を液密状態に接続可能なものとなっている。また、この接続部 4 3 の後端側に外筒 4 1 の先端が液密に取り付けられている。また、プランジャ 4 2 の後端部には、操作部 4 4 が設けられている。なお、吸引具 4 としては、卵凍結保存用チューブ 2 の本体部 2 1 の後端部に液密に接続可能であって、卵をガラス化液とともに吸引できるものであればどのようなものであってもよい。

次に、本発明の卵凍結保存方法について説明する。この卵凍結保存方法は、上述した卵凍結保存用具の使用方法でもある。

本発明の卵凍結保存方法は、上述した卵凍結保存用具を用いる卵凍結保存方法である。

この保存方法では、細胞内液の平衡液への置換および細胞外液のガラス化液への置換を行った卵を準備する工程と、卵凍結保存用チューブ 2 の細径部 2 1 内に卵をガラス化液とともに採取する採取工程と、卵を採取した卵凍結保存用チューブ 2 の細径部 2 1 の先端部において卵凍結保存用チューブの一端側をヒートシールし、本体部 2 2 において卵凍結保存用チューブ 2 の他端側をヒートシールする卵凍結保存用チューブ封止工程と、封止された卵凍結保存用チューブ 2 に金属製保護部材 3 を取り付ける保護部材取付工程と、保護部材 3 が取り付けられた卵凍結保存用チューブ 2 を液体窒素タンク内に投入する投入工程とが行われる。

【0023】

特に、本発明の保存方法としては、卵凍結保存用具として、卵凍結保存用チューブ 2 の本体部 2 2 の後端部を接続可能な接続部を備える卵採取用吸引具 4 を備えるものが用いられることが好ましい。

この場合の保存方法は、細胞内液の平衡液への置換および細胞外液のガラス化液への置換を行った卵を準備する工程と、卵凍結保存用チューブ 2 の本体部 2 2 に吸引具 4 を装着したものを準備する工程と、吸引具 4 を操作して卵凍結保存用チューブ 2 の細径部 2 1 内に卵をガラス化液とともに採取する採取工程と、吸引具 4 を装着した状態において、細径部 2 1 の先端部において卵凍結保存用チューブ 2 の一端側をヒートシールし、本体部 2 2 において卵凍結保存用チューブ 2 の他端側をヒートシールする卵凍結保存用チューブ封止工程と、卵凍結保存用チューブ 2 より吸引具 4 を取り外す吸引具除去工程と、封止された

卵凍結保存用チューブ 2 に金属製保護部材 3 を取り付ける保護部材取付工程と、保護部材 3 が取り付けられた卵凍結保存用チューブ 2 を液体窒素タンク内に投入する投入工程とを行うものとなる。

特に、上述した卵凍結保存用チューブ封止工程において、吸引具を装着したまま行うため、卵を採取したチューブ内に雑菌が侵入することを防止できる。

【0024】

本発明の卵凍結保存方法を卵子を凍結保存する場合を例に取り説明する。

まず、ピペットの先端に卵子を採取し、卵子の細胞内液を平衡液に置換する作業を行う。続いて、細胞外液をガラス化液に置換する作業を行う。

そして、図 6 に示すように、卵凍結保存用チューブ 2 の本体部に吸引具 4 を装着したものを準備し、顕微鏡下において、吸引具 4 を操作して、シャーレ 50 内のガラス化液中の卵子を採取する。そして、卵子 52 を卵凍結保存用チューブ 2 の細径部 22 にガラス化液とともに採取する。好ましくは、卵子 52 を、図 7 に示すように、卵凍結保存用チューブ 2 の細径部 22 の中央部から基端部付近に卵子が位置するようにガラス化液とともに採取する。そして、チューブ 2 の細径部 21 の先端部においてチューブ 2 の一端側をヒートシールしてシール部 61a を形成し、本体部 22 においてチューブ 2 の他端側をヒートシールしてシール部 61b を形成する。これにより、チューブ 2 は、図 7 に示すように、両端部が封止される。

そして、吸引具 4 より、チューブ 2 を取り外し、図 8 に示すように、金属製保護部材 3 の筒状部 31 にチューブ 2 の細径部 22 の先端部を挿入し、チューブ 2 の本体部 21 を半筒状部 32 の保持部 33 により保持させて、チューブ 2 に保護部材を取り付ける。そして、液体窒素タンク内に入れ凍結させて保存する。

【0025】

次に、本発明の他の実施例の卵凍結保存用具について説明する。

図 9 は、本発明の卵凍結保存用具の他の実施例の斜視図である。図 10 は、図 9 に示した卵凍結保存用具に使用される卵凍結保存用チューブの拡大図である。図 11 は、図 9 に示した卵凍結保存用具に使用される筒状保護部材の拡大図である。図 12 は、図 10 に示した卵凍結保存用チューブの拡大断面図である。図 13 は、図 11 に示した筒状保護部材の拡大断面図である。

【0026】

本発明の卵凍結保存用具 60 は、耐液体窒素材料で形成されるとともにヒートシール可能な卵凍結保存用チューブ 70 と、耐液体窒素材料により形成され、卵凍結保存用チューブ 70 に取り付けられた卵凍結保存用チューブ 70 を保護するための金属製筒状保護部材 80 とを備えるものであって、卵凍結保存用チューブ 70 は、本体部 71 と、本体部 71 より細径であるとともに、内径が 0.1 mm ~ 0.5 mm の卵保存用細径部 72 とを備えるとともに、卵凍結保存用チューブ 70 の細径部 72 内に卵を採取した後において、細径部 72 を細径部 72 の先端側にてヒートシール可能な先端側ヒートシール可能部と本体部 71 にてヒートシール可能な後端側ヒートシール可能部とを備え、筒状保護部材 80 は、卵凍結保存用チューブ 70 の細径部 72 の先端部を収納する筒状部 81 と、筒状部 81 の基端側に設けられた卵凍結保存用チューブ 70 の細径部 72 の筒状部 81 に収納されない部分および本体部 71 の先端部を収納する半筒状部 82 と、半円筒状部 82 の後端側に設けられた卵凍結保存用チューブ 70 の本体部 71 を保持するための保持部 83 を備え、筒状保護部材 80 は、細径部 72 が筒状保護部材 80 の先端から露出するように後端側にスライド可能であり、さらに、卵凍結保存用チューブ 70 の本体部 71 もしくは本体部 71 と細径部 72 との境界部付近には筒状保護部材 80 が卵凍結保存用チューブ 70 に対して先端側に抜けることを防止する抜け防止部 74 が設けられている。

【0027】

また、卵凍結保存用具 60 は、卵凍結保存用チューブ 70 の本体部 71 の後端部と接続可能な接続部 87 と、接続部 87 に直接的かつ間接的に取り付けられたチューブ 88 と、チューブに設けられたマウスピース 89 を備える卵採取用吸引具 86 を有していることが

好ましい。なお、吸引具としては、上述したシリンジタイプの卵採取用吸引具 4 であってもよい。

この実施例の卵凍結保存用具 60 は、図 9 に示すように、卵凍結保存用チューブ 70 と、卵凍結保存用チューブ 70 に取り付けられた筒状保護部材 80 と、卵採取用吸引具 86 とを備える。

【0028】

この実施例の卵凍結保存用チューブ 70 は、上述した卵凍結保存用チューブ 2 と基本構成が同じであり、チューブ 70 の本体部 71 が抜け防止部 74 を有している点のみ異なっている。以下、相違点を中心に説明する。

卵凍結保存用チューブ 70 は、図 9 に示すように、本体部 71 と、本体部 71 より細径である卵保存用細径部 22 と、本体部 71 と細径部 72 間に先端側に向って縮径するテーパ部 73 を備え、さらに、テーパ部 73 と本体部 71 の先端部との境界部付近に抜け防止部 74 が設けられている。

卵凍結保存用チューブ 70 は、図 9 に示すように、卵採取用吸引具として上述したようなシリンジタイプのものを使用する場合、全長 50～100 mm 程度が好ましく、本体部 71 の長さとしては 30～60 mm が好ましく、本体部 71 の内径としては、1.0～3.0 mm、特に、1.6～1.8 mm が好ましく、本体部 71 の肉厚としては、50～400 μ m、特に、100～300 μ m が好ましく、細径部 72 の長さとしては、20～50 mm が好ましく、特に、30～40 mm が好ましい。

【0029】

また、卵採取用吸引具として図 9 に示すようなマウスピースタイプのものを使用する場合、全長 110～150 mm 程度が好ましく、本体部 71 の長さとしては 80～115 mm が好ましく、本体部 71 の内径としては、1.0～3.0 mm、特に、1.6～1.8 mm が好ましく、本体部 71 の肉厚としては、50～400 μ m、特に、100～300 μ m が好ましく、細径部 72 の長さは、20～50 mm が好ましく、特に、30～40 mm が好ましい。卵採取用吸引具が図 9 に示すようにマウスピースタイプのものである場合は、卵凍結保存用具はペンを持つような状態で使用されるため、チューブ 70 の全長はシリンジタイプの吸引具を使用する場合より長く形成されていることが好ましい。

本体部 71 は、図 9、図 10、図 12 に示すように、抜け防止部 74 を除いて全体が実質的に同じ外径となっている。また、細径部 72 もその全体が実質的に同じ外径となっている。なお、本体部 71 および細径部 72 は、先端側に向かって緩やかに縮径するテーパ状となっていてよい。また、本発明の実施例では、抜き防止部は、テーパ部 73 と本体部 71 の先端部との境界部付近に設けられているが、境界部付近より後端側の本体部 71 に設けられていてもよい。

【0030】

本体部 71 の内径は、1.5～2.0 mm であり、特に、1.6～1.8 mm が好ましい。また、本体部 71 の肉厚は、10～300 μ m であることが好ましく、特に、25～200 μ m が好ましい。細径部 72 の内径は、0.15～0.30 mm であり、特に、0.20～0.285 mm であることが好ましい。また、細径部 72 の肉厚は、10～300 μ m であることが好ましく、特に、25～200 μ m が好ましい。また、細径部 72 の肉厚は、本体部 71 の肉厚より薄いことが好ましい。

テーパ部 73 は、外径および肉厚の移行領域を形成している。具体的には、テーパ部 73 において、外径および内径は細径部 72 側に向かって縮径するとともに肉厚も細径部 72 側に向かって薄くなっている。このような移行領域であるテーパ部を設けることにより、本体部と細径部との境界部分でのチューブのキンクを抑制することができる。

卵凍結保存用チューブの材質としては上述したものが好ましい。また、卵凍結保存用チューブは、上述したチューブのような多層チューブであってもよい。

【0031】

本発明の実施例の抜け防止部 74 は、卵凍結保存用チューブ 70 の本体部 71 の先端部とテーパ部 73 に設けられた拡径部 74 である。拡径部 74 は、本体部 71 とテーパ部

部 7 3 との境界部の両側から境界部に向かって緩やかに拡張するように設けられている。拡張部 7 4 の外径は、後述する保持部 8 3 の内径より大きく作製されている。このような構成により、拡張部 7 4 が保持部 8 3 と接触して、それ以上保護部材 8 0 が卵凍結保存用チューブ 7 0 に対して先端側に進行しないものとなっている。また、拡張部 7 4 の外径は、筒状保護部材 8 0 の内径より小さく作成されていることが好ましい。また、本発明の実施例における卵凍結保存用チューブにおいては、拡張部は保存用チューブと一体に作成されている。抜け防止部としては、本発明の実施例のように卵凍結保存用チューブと一体に作製されていなくてもよく、卵凍結保存用チューブに別部材を取り付けることにより作製されていてもよい。このような抜き防止部としては、例えば、卵凍結保存用チューブに環状部材を取り付けることにより作製されるものであってもよい。

また、抜け防止部としては、保持部 8 3 が卵凍結保存用チューブ 7 0 に対して先端側に抜けることを防止するものであればいかなる形状であってもよい。

【0032】

また、卵凍結保存用チューブには、吸引した卵子の位置を確認するための目盛りが設けられていることが好ましい。シリンジタイプの卵採取用吸引具に取り付ける卵凍結保存用チューブは、先端から 5、8、24、70 mm の位置に目盛りが設けられていることが好ましい。マウスピースタイプの卵採取用吸引具に取り付ける卵凍結保存用チューブは、先端から 5、8、24、100 mm の位置に設けられていることが好ましい。また、上述した卵保存用チューブ 2 にも目盛りが設けられていてもよい。

【0033】

さらに、卵凍結保存用チューブは、上述したチューブ 2 と同様に、細径部内に卵を採取した後において、細径部を細径部の先端側にてヒートシール可能な先端側ヒートシール可能部と本体部を本体部の後端側にてヒートシール可能な後端側ヒートシール可能部とを備えている。この実施例では、いずれの部位においてもヒートシール可能なものとなっている。しかし、このようなものに限定されるものではなく、細径部の先端部および本体部の後端部に、ヒートシール用の薄肉部分を形成し、ヒートシール可能部（易ヒートシール可能部）を作製してもよい。さらに、ヒートシール性材料により形成された内層を、細径部の先端側および本体部の後端部に設け、ヒートシール可能部を形成してもよい。

【0034】

次に、筒状保護部材 8 0 について説明する。

筒状保護部材 8 0 の基本構成は、上述した筒状保護部材とはほぼ同じであり、保持部 8 3 の形状のみ異なっている。以下、相違点を中心に説明する。

金属製筒状保護部材 8 0 は、卵凍結保存用チューブ 7 0 に装着されている。保護部材 8 0 は、先端側に位置する筒状部 8 1 と後端側に位置する半筒状部 8 2 と、半筒状部 8 2 の後端側に位置する保持部 8 3 を有している。筒状部 8 1 は、卵凍結保存用チューブ 7 0 の細径部 7 2 の先端側を収納する部分であり、半筒状部 8 2 は、細径部 7 2 の筒状部 8 1 に収納されない部分および本体部 7 1 の先端部を収納する部分である。筒状部 8 1 と半筒状部 8 2 の構成としては、上述したものと同様であることが好ましい。

【0035】

保持部 8 3 は、半円筒状部 8 2 の後端部を卵凍結保存用チューブ 7 0 の本体部 7 1 の外面に沿うようにかしめることにより作製されている。保持部 8 3 は、チューブ 7 0 の本体部 7 1 に密接して取り付けられ、チューブ 7 0 の本体部 7 1 の外面を保持している。また、筒状保護部材 8 0 は、図 15 に示すように先端から卵凍結保存用チューブ 7 0 の細径部 7 2 が露出するようにスライド可能にチューブ 7 0 の本体部 7 1 に装着されている。具体的に、保護部材 8 0 の保持部 8 3 が、筒状保護部材 8 0 が凍結保存用チューブ 7 0 の本体部 7 1 上をスライド可能な程度に密接し保持している。保持部 8 3 としては、上述した保持部 3 3 のような構成をしているものであってもよい。また、本発明の実施例において半円筒状部 8 2 と保持部 8 3 の間には後端側に向かって縮径する縮径部 8 4 が形成されているため、図 9 に示すように、筒状保護部材 8 0 の筒状部 8 1 がチューブ 7 0 の細径部 7 2 を収納した状態で、拡張部 7 4 と縮径部 8 4 とが係合するものとなっている。このため、

細径部 72 を収納した状態で保護部材 80 が後端側に移動しにくいものとなっている。

【0036】

この筒状保護部材 80 は、ガラス化液とともに卵を採取したチューブ 70 を、卵の冷却を阻害することなく保護するものである。このため、チューブ 70 の採取した卵が位置する細径部 72 の中間部もしくは後端部は、半筒状部 82 に位置するようにチューブ 70 に装着されている。つまり、保護部材 80 は、チューブ 70 に、チューブ 70 の卵を収納する細径部 72 部分が露出し、液体窒素に容易に接触可能な状態に装着されている。

また、保護部材 80 は、筒状部 81 の先端より、チューブ 70 の先端が突出しない状態に装着されている。このため、液体窒素充填容器内に保護部材 80 を装着したチューブ 70 を細径部側より投入しても、チューブの細径部の先端は容器の底面に当接しない。このため、チューブ 2 が細径部もしくはテーパ部においてキンクし、チューブが破損することを防止できる。

【0037】

保護部材 80 は、全長が 20～70 mm が好ましく、特に、30～50 mm が好適である。より好ましくは、45～55 mm である。筒状部 81 の長さは、5～40 mm が好ましく、特に、5～20 mm が好ましい。より好ましくは、7～15 mm である。筒状部 81 の内径は、2.0～4.0 mm が好ましく、特に、2.5～3.5 mm が好ましい。なお、筒状部は、図示する実施例のような円筒状であることが好ましいが、これに限定されるものではなく、楕円筒状、多角筒状であってもよい。筒状部 81 の肉厚は、0.3～1.0 mm が好ましい。

半筒状部 82 の長さは、10～40 mm が好ましく、特に、25～35 mm が好ましい。また、半筒状部としては、内周の大きさが筒状部の内周の $1/3 \sim 2/3$ 程度であることが好ましい。特に、半筒状部 82 としては、半筒状部 82 の側面側よりチューブ 70 の本体部 71 を収納可能であることが好ましい。このようにすることにより、チューブ 70 を半筒状部 82 の端面開口ではなく、軸方向に長い側面開口より装着することができる。なお、半筒状部は、図示する実施例のような半円筒状であることが好ましいが、これに限定されるものではなく、半楕円筒状、半多角筒状であってもよい。筒状保護部材 80 の構成材料としては、保護部材 3 と同様の材料を使用することが好ましい。保持部 83 の長さは、1.5～3.5 mm であることが好ましい。また、保持部 83 の内径は、1.5～2.0 mm であることが好ましい。

【0038】

また、卵凍結保存用具 60 は、卵凍結保存用チューブ 70 の本体部 71 の後端部を接続可能な接続部 87 と、接続部 87 に直接的かつ間接的に取り付けられたチューブ 88 と、チューブ 88 に取り付けられたマウスピース 89 を備える卵採取用吸引具 86 を有するものである。このマウスピース型吸引具 86 は、マウスピースを口で吸うことにより卵凍結保存用チューブ 70 内に卵子を吸引するものである。

また、接続部 87 とチューブ 88 との間にはフィルター部 90 が設けられていることが好ましい。

本発明の実施例の吸引具 86 は、図 9 に示すように、筒状の接続部 87 と、接続部 87 とチューブ 88 との間に設けられたフィルター部 90 と、チューブ 88 と、マウスピース 89 を有している。

【0039】

接続部 87 は、筒状部材であり、一端側は卵凍結保存用チューブ 70 の本体部 71 が取り付けられる形状となっている。他端側はフィルター部 90 のポート 92 を取り付け可能な形状となっている。

フィルター部 90 は、円盤状に形成された内部にフィルター 93 が配置された本体部 91 と、本体部 91 の両面に設けられたポート 92 を有している。フィルター 93 は、通気性と液体非透過性を有しているものが好ましい。一方のポート 92 には、接続部 87 が取り付け可能であり、他方のポート 92 はチューブ 88 が取り付け可能なものとなっている。

チューブ 88 は、シリコン、ポリ塩化ビニル等の可撓性材料により作製されていることが好ましい。チューブ 88 の長さとしては、マウスピース 89 を口にくわえた状態で、卵凍結保存用チューブ 70 をペンを持つような状態で使用可能な程度の長さを有していることが好ましい。

次に、本発明の卵凍結保存方法について説明する。この卵凍結保存方法は、上述した卵凍結保存用具 85 を使用する卵凍結保存方法である。図 15 は、本発明の卵凍結保存用具の作用を説明するための説明図である。図 16 は、本発明の卵凍結保存用具の作用を説明するための説明図である。

【0040】

この保存方法では、細胞内液の平衡液への置換および細胞外液のガラス化液への置換を行った卵を準備する工程と、筒状保護部材 80 を卵凍結保存用チューブ 70 に対して後端側にスライドさせ、チューブ 70 の細径部 72 を露出させる工程と、卵凍結保存用チューブ 70 の細径部 72 内に卵をガラス化液とともに採取する採取工程と、卵を採取した卵凍結保存用チューブ 70 の細径部 72 の先端部において卵凍結保存用チューブの一端側をヒートシールし、本体部 71 において卵凍結保存用チューブ 70 の他端側をヒートシールする卵凍結保存用チューブ封止工程と、卵凍結保存用チューブ 70 の一端側を封止後もしくは一端側及び本体部 71 の両方を封止後、筒状保護部材 80 を先端側にスライドさせ筒状保護部材 80 内にチューブ 70 の細径部 72 を収納する工程と、卵凍結保存用具 60 を液体窒素タンク内に投入する投入工程とが行われる。

【0041】

具体的に、この保存方法では、細胞内液の平衡液への置換および細胞外液のガラス化液への置換を行った卵を準備する工程と、卵凍結保存用具 60 を構成する卵凍結保存用チューブ 70 の本体部 71 に吸引具 86 を装着したものを準備する工程と、卵凍結保存用具 60 の筒状保護部材 80 を卵凍結保存用チューブ 70 に対して後端側にスライドさせ、チューブ 70 の細径部 72 を露出させる工程と、吸引具 86 を操作して卵凍結保存用チューブ 70 の細径部 72 内に卵をガラス化液とともに採取する採取工程と、吸引具 86 を装着した状態において、細径部 72 の先端部において卵凍結保存用チューブ 70 の一端側をヒートシールし、本体部 71 において卵凍結保存用チューブ 70 の他端側をヒートシールする卵凍結保存用チューブ封止工程と、卵凍結保存用チューブ 70 の一端側を封止後もしくは一端側及び本体部 71 の両方を封止後、筒状保護部材 80 を先端側にスライドさせ筒状保護部材 80 内にチューブ 70 の細径部 72 を収納する工程と、卵凍結保存用チューブ 70 より吸引具 86 を取り外す吸引具除去工程と、吸引具 86 を取り外した卵凍結保存用具を液体窒素タンク内に投入する投入工程とが行われる。

特に、上述した卵凍結保存用チューブ封止工程において、吸引具を装着したまま行うため、卵を採取したチューブ内に雑菌が侵入することを防止できる。

【0042】

本発明の卵凍結保存方法を卵子を凍結保存する場合を例に取り説明する。まず、ピペットの先端に卵子を採取し、卵子の細胞内液を平衡液に置換する作業を行う。続いて、細胞外液をガラス化液に置換する作業を行う。

そして、図 9 に示すように、卵凍結保存用具 60 を構成する卵凍結保存用チューブ 70 の本体部 71 に吸引具 86 を装着したものを準備する。そして、図 15 に示すように、筒状保護部材 80 を卵凍結保存用チューブ 70 に対して後端側にスライドさせ、細径部 72 を露出させる。そして、顕微鏡下において、吸引具 86 を操作して、図 15 に示すように、シャーレ 50 内のガラス化液中の卵子 52 を採取する。そして、卵子 52 を卵凍結保存用チューブ 70 の細径部 72 にガラス化液 51 とともに採取する。好ましくは、卵子を、卵凍結保存用チューブ 70 の細径部 72 の中央部から基端部付近に卵子が位置するようにガラス化液 51 とともに採取する。そして、チューブ 70 の細径部 72 の先端部においてチューブ 70 の一端側をヒートシールしてシール部 71a を形成し、本体部 71 においてチューブ 70 の他端側をヒートシールしてシール部 71b を形成する。これにより、チューブ 70 は、図 16 に示すように、両端部が封止される。封止後、筒状保護部材 80 を図

16に示すように、先端側にスライドさせ、保護部材80内にチューブ70の細径部72を収納する。そして、吸引具86より、卵凍結保存用具（卵凍結保存用チューブ70と筒状保護部材80）を取り外し、それを液体窒素タンク内に入れ凍結させて保存する。

【図面の簡単な説明】

【0043】

【図1】図1は、本発明の卵凍結保存用具の一実施例の斜視図である。

【図2】図2は、図1に示した卵凍結保存用具に使用される卵凍結保存用チューブの拡大側面図である。

【図3】図3は、図1に示した卵凍結保存用具に使用される卵凍結保存用チューブ用保護部材の拡大側面図である。

【図4】図4は、図1に示した卵凍結保存用具に使用される卵凍結保存用チューブ用吸引具の拡大断面図である。

【図5】図5は、本発明の卵凍結保存用具に使用される卵凍結保存用チューブの他の例の拡大側面図である。

【図6】図6は、本発明の卵凍結保存用具の作用を説明するための説明図である。

【図7】図7は、本発明の卵凍結保存用具の作用を説明するための説明図である。

【図8】図8は、本発明の卵凍結保存用具の作用を説明するための説明図である。

【図9】図9は、本発明の卵凍結保存用具の他の実施例の斜視図である。

【図10】図10は、図9に示した卵凍結保存用具に使用される卵凍結保存用チューブの拡大図である。

【図11】図11は、図9に示した卵凍結保存用具に使用される筒状保護部材の拡大図である。

【図12】図12は、図10に示した卵凍結保存用チューブの拡大断面図である。

【図13】図13は、図11に示した筒状保護部材の拡大断面図である。

【図14】図14は、図9に示した卵凍結保存用具に使用される卵採取用吸引具を構成するフィルター部の拡大図である。

【図15】図15は、本発明の卵凍結保存用具の作用を説明するための説明図である。

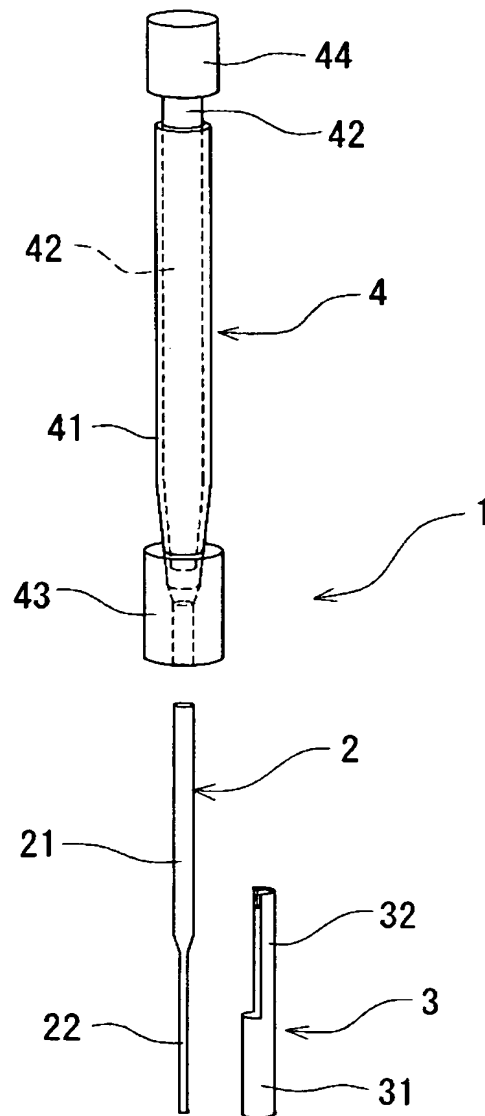
【図16】図16は、本発明の卵凍結保存用具の作用を説明するための説明図である。

【符号の説明】

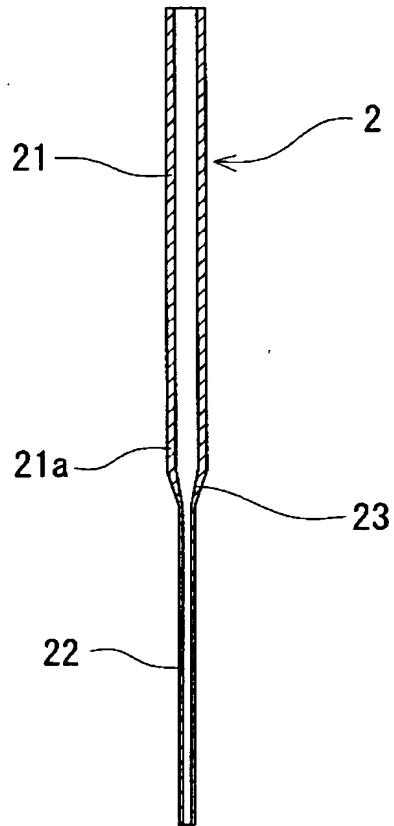
【0044】

- 1 卵凍結保存用具
- 2 卵凍結保存用チューブ
- 3 金属製筒状保護部材

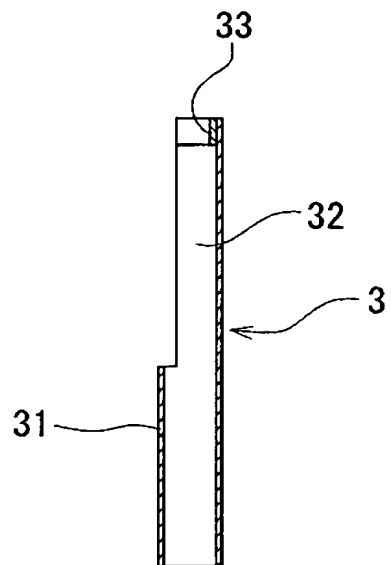
【書類名】 図面
【図 1】



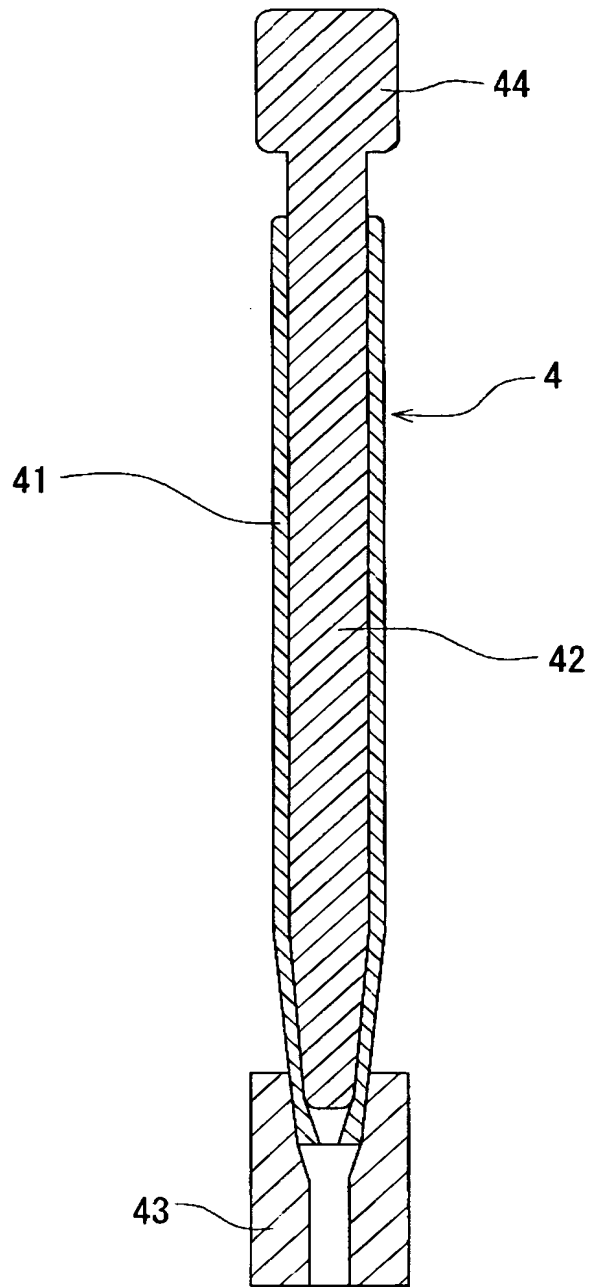
【図 2】



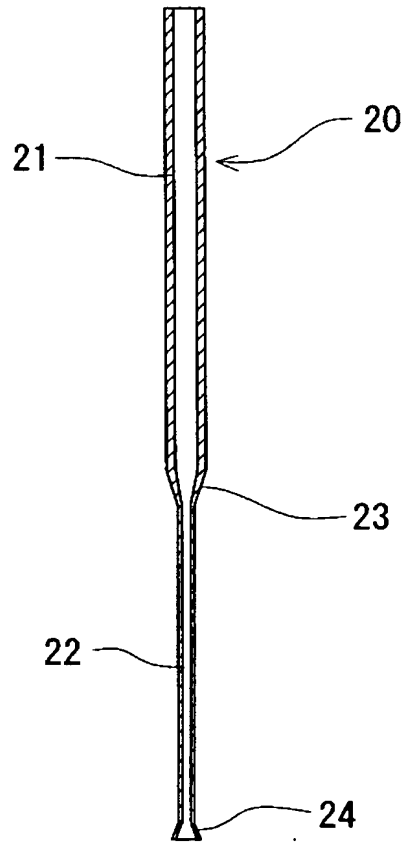
【図 3】



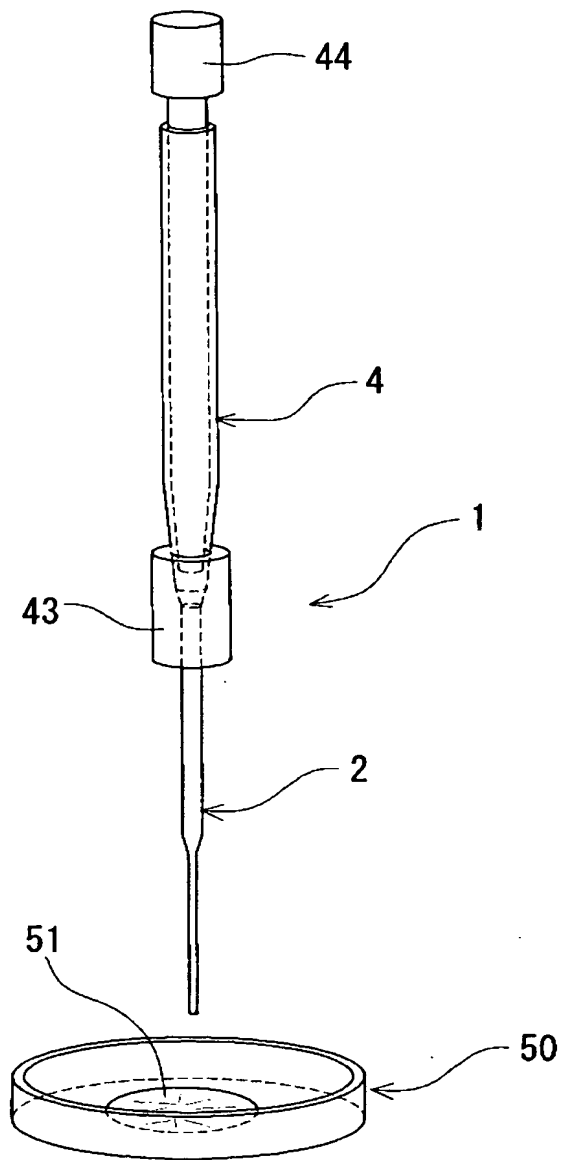
【図 4】



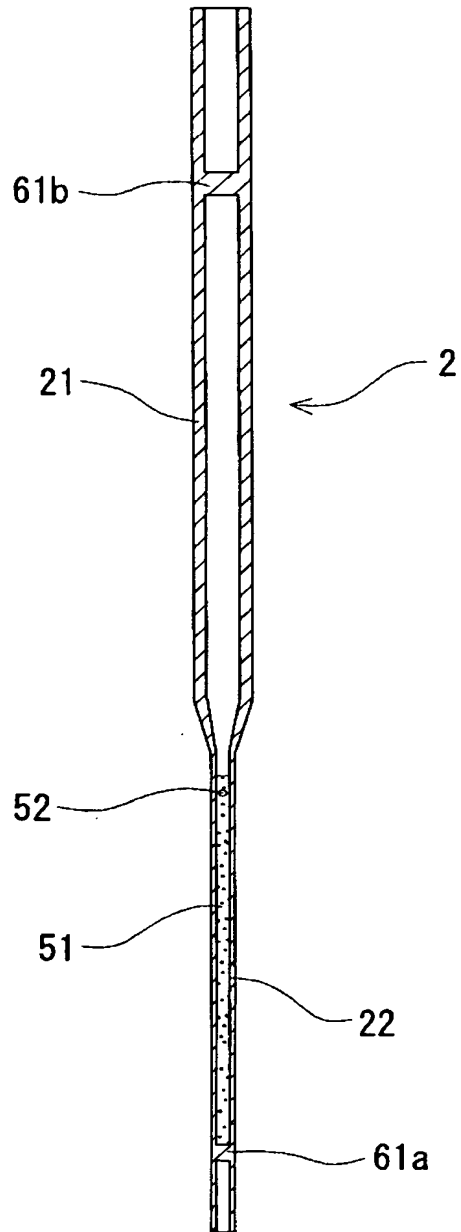
【図5】



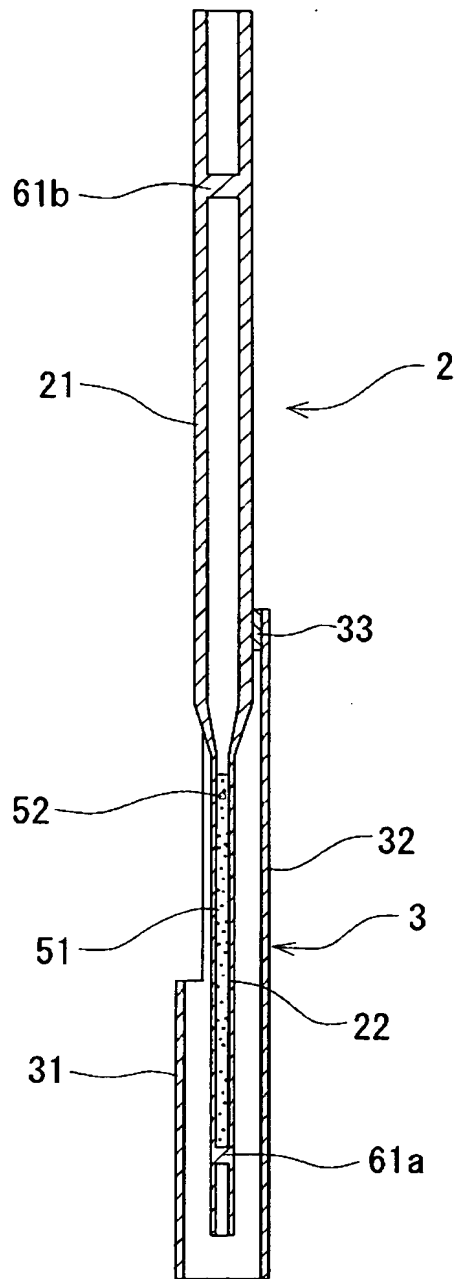
【図 6】



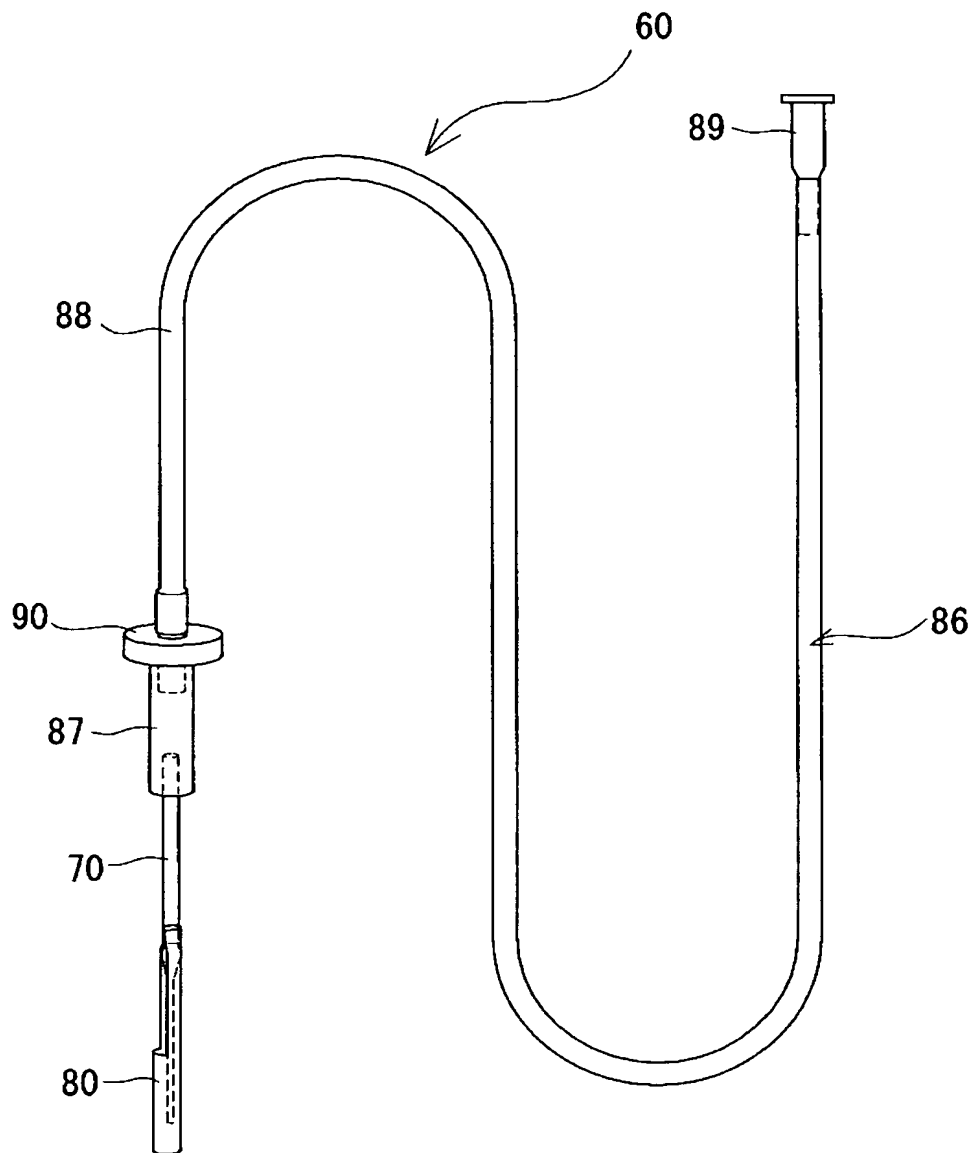
【図 7】



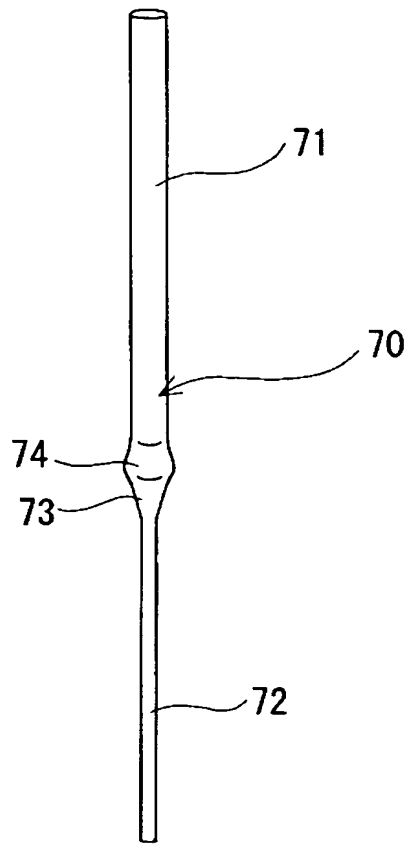
【図 8】



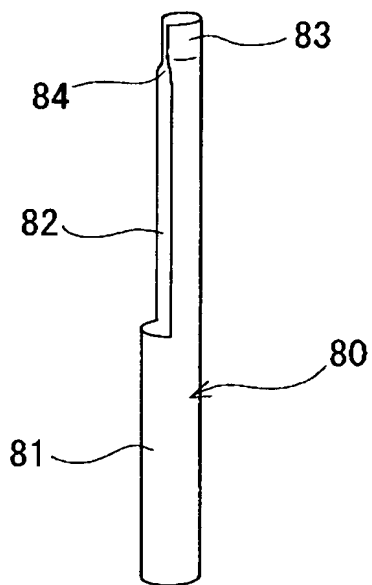
【図 9】



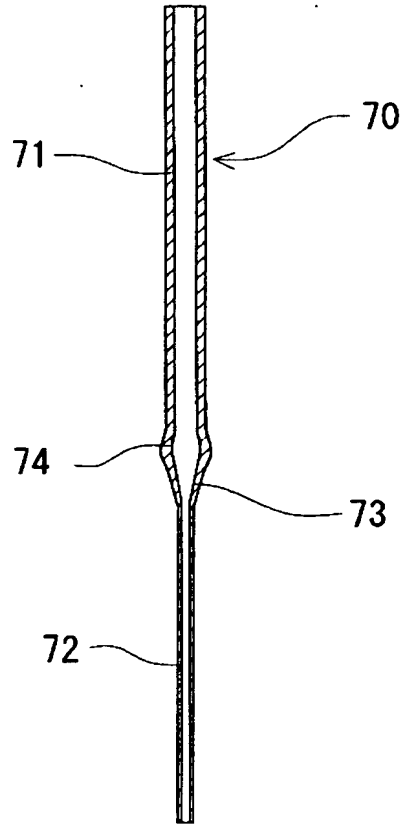
【図 1 0】



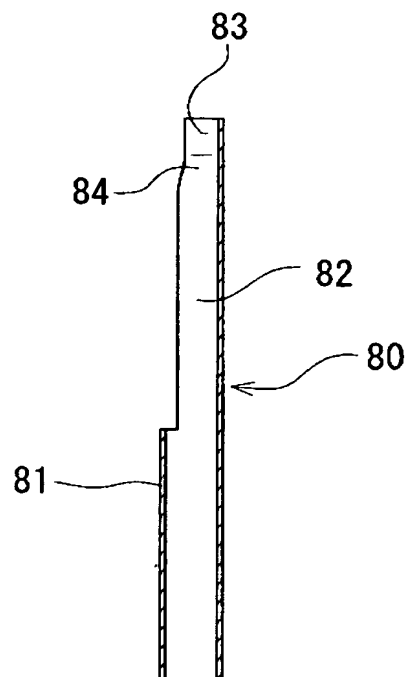
【図 1 1】



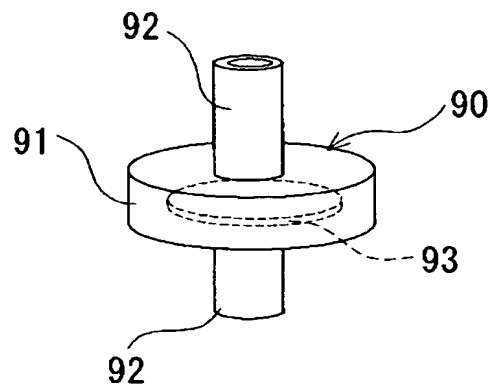
【図 12】



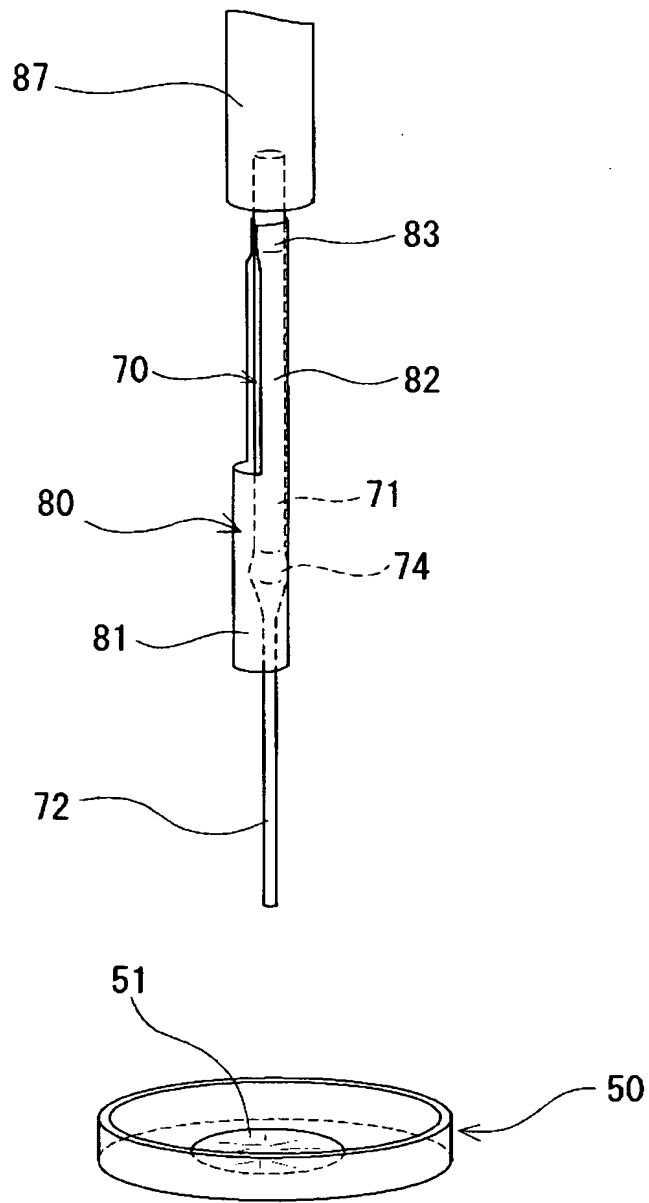
【図 13】



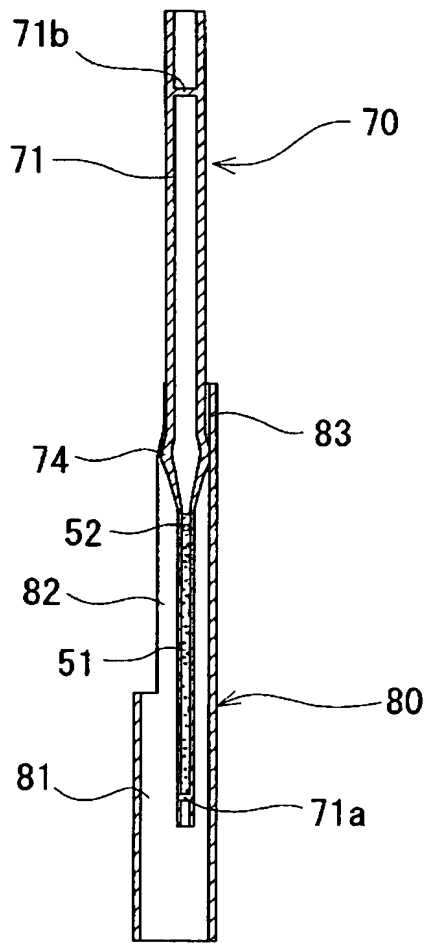
【図 1 4】



【図 15】



【図 16】



【書類名】 要約書**【要約】**

【課題】 卵の凍結（ガラス化）を含む保存用液体窒素タンク内の保存のための作業中に雑菌が侵入することを防止し、かつ、卵を直接液体窒素に接触させることなく、急速に冷却可能である卵凍結保存用具を提供する。

【解決手段】 卵凍結保存用具 1 は、耐液体窒素材料で形成された卵凍結保存用チューブ 2 と、チューブ 2 を保護するための金属製筒状保護部材 3 とを備える。チューブ 2 は、本体部 2 1 と、内径が 0. 1 mm ～ 0. 5 mm の卵保存用細径部 2 2 とを備えるとともに、細径部の先端側にてヒートシール可能であり、本体部 2 1 にてヒートシール可能である。筒状保護部材 3 は、チューブ 2 の細径部 2 2 の先端部を収納する筒状部 3 1 と、細径部 2 2 の筒状部 3 1 に収納されない部分および本体部 2 1 の先端部 2 1 a を収納する半筒状部 3 2 とを備えている。

【選択図】 図 8

特願 2 0 0 3 - 3 4 0 4 9 6

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[5 9 3 0 3 7 5 5 3]

1. 変更年月日

1 9 9 9 年 6 月 3 日

[変更理由]

住所変更

住 所

静岡県富士宮市野中 1 1 4 4 番地の 3

氏 名

株式会社北里サプライ

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.